

セントポーリアの葉外植片のカルス形成およびシュート形成 に及ぼすオーキシンおよびサイトカイニンの影響

箱 崎 美 義

(1993年1月20日受理)

Effects of Auxin and Cytokinin on Formation of Callus and Shoot of *In Vitro* culturing Leaf Explant in African Violets

Miyoshi HAKOZAKI

Synopsis

The effects of 1-naphthaleneacetic acid (NAA) and 6-benzyladenine (BA) as plant growth regulators on callus formation, growth and shoot formation of leaf explants cultured in the African violet (*Saintpaulia ionantha* cv. Susie) were studied *in vitro*. Experimental plots consisted of 15 levels modified with Murashige and Skoog (MS) basal medium supplemented with 0, 0.5, or 1.0 mg·liter⁻¹ NAA and 0, 0.05, 0.1, 0.5 or 1.0 mg·liter⁻¹ BA in combination. The leaf tissue explants were cultured 6 weeks on an incubator maintained at 25±2°C under cool-white fluorescent lamp (3.0 Klux) and a 16-hr photoperiod. The number of days from explants placed into solid medium to the beginning formation of callus, shoot and adventitious root, from callus formation to adventitious root were shortest in cultures containing NAA 0.5 mg and BA 0.5~1.0 mg·liter⁻¹ in combination. The number of shoot formation is maximized at cultured in combination NAA 1.0 mg: BA 1.0 mg·liter⁻¹. The adventitious root formation increased at cultures containing NAA 0.5 mg: BA 0.1 mg·liter⁻¹ in combination, while the higher concentration was inhibited the these. Cultures with NAA 0 mg: BA 0~1.0 mg·liter⁻¹ in combination were not formed the adventitious root. The total living organisms of callus and shoot were weightest at culturing with NAA 0.5 mg: BA 1.0 mg·liter⁻¹ in combination. The morphogenesis on *in vitro* culture in African violet leaf tissue explant showed good results on 0.5 mg·liter⁻¹ NAA and BA in combination, while these morphogenesis was effectiveness the composite than that single treatment of NAA and BA.

緒 言

著者は前報⁽⁷⁾において、セントポーリアの葉組織培養による大量増殖法の確立のための培地成分として不可欠な有機化合物のうち、しょ糖と培地 pH をとりあげ、それらがセントポーリアの葉外植片のカルスおよびシュート形成に及ぼす影響について実験を行った。その結果、カルス形成、シュート形成の最適なしょ糖の処理濃度は30 g/l で、また、その培地 pH 値は5.8であるこ

とを明らかにした。

次に、この培地成分に不可欠な有機化合物である植物生長調整物質を取りあげ、それらセントポーリアの葉外植片の形態形成に及ぼす影響について究明する必要がある。これまでに、花き、野菜および果樹など多種類の作物の *in vitro* 培養における形態形成に及ぼす植物ホルモンの影響について報告されている⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹³⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾⁽²³⁾。また、Y. P. S. Bajaj (1992) の資料によると、セントポーリアの葉組織の *in vitro* 培養における形態形成に及ぼす植物ホルモンの NAA および BA の影響について、Grune waldt J (1976), Kvkulczancka K (1973) ら、Finer JJ (1987) ら、Harney PM (1979) ら、Start ND (1976) ら、Chang JS (1985) らの報告があるが、培地の NAA および BA とカルス、シュートの形態形成と所要日数、器官形成と生体重など、生体形質との関係について明らかでない。

そこで本研究では、増殖または栽培が難しい品種のスージを対象に、それら葉外植片のカルス形成、シュート形成および不定根形成など、形態形成に及ぼすナフタレン酢酸 (NAA) および N⁶-ベンジルアデニン (BA) の影響について実験を行った。

材料および方法

培養植物はセントポーリア (*Saintpaulia ionantha* Wendl.), オプティマ系, 品種: スージで、葉ざしの育成、開花株 (市販品) を母株として用いた。外植片とした葉は無病母株の長さ 6 cm の有柄展開葉を採取し、水道流水で 5 分洗い、中性洗剤溶液で 5 分攪拌し、5 分間流水洗した。次に 7 % エタノールに 1 分、1 % 次亜塩素酸ナトリウム溶液に 10 分浸漬攪拌し、無菌下で滅菌水で 2 回洗浄した。葉身部を 8 mm² の大きさに切断し外植片とした。培養培地は MS を基本として、培養液 1 l 当たり、寒天 9 g, シュ糖 30 g とし、pH 値 5.8 に調整したこれら培養液は径 30 × 120 mm 管瓶に 20 ml/ ずつ分注し、1.2 kg/cm², 121°C, オートクレーブで 20 分滅菌処理し培養培地とした。外植片置床は基部を下に 1/3 を培地中央に植付けた。培養は置床後 7 日間は 25 ± 2°C, 暗黒下で、その後は 25 ± 2°C, 昼光色蛍光灯を用い、照度 3.0 klux, 16 時間長下のインキュベーターにおいて 42 時間行った。実験区は NAA 0, 0.5 および 1.0 mg/l の 3 濃度と BA 0, 0.05, 0.1, 0.5 および 1.0 mg/l の 5 濃度組合わせを第 1 表に示すとおりで、計 15 区を設けた。供

Table 1. Experimental plots and combinations of treatment concentration of NAA and BA.

Growth regulator (mg·liter ⁻¹)	BA				
	0	0.05	0.1	0.5	1.0
NAA 0	0 / 0	0 / 0.05	0 / 0.1	0 / 0.5	0 / 1.0
0.5	0.5 / 0	0.5 / 0.05	0.5 / 0.1	0.5 / 0.5	0.5 / 1.0
1.0	1.0 / 0	1.0 / 0.05	1.0 / 0.1	1.0 / 0.5	1.0 / 1.0

試外植片数は各実験区とも20個体とした。調査は各形質について外植片置床から実験終了までの42日間、経時的にカルス形成、シュート形成および不定根形成について調べた。

結果および考察

外植片置床からカルス形成までの所要日数は Fig. 1-a, 1-b. および 1-c. に示した。これら図から明らかなように、NAA 濃度処理区間を対比すると、0.5 mg/l 各区が1.0 mg/l 各区のそれと比べ、日数が少なく、0 mg/l 各区は多くの日数を要し、カルスを形成する傾向を示した。また、BA 濃度処理区間では、NAA の各濃度処理とも高濃度処理区ほど日数が少なく、反対に低濃度処理区ほど多くの日数を要し、カルスを形成する傾向を示した。また、NAA と BA 処理濃度組合わせ区間では、0/0.05区が33.1日で最多日数を要し、次いで0/0.1区>0/0.5区>0/1.0区>1.0/0.5区の順となり、0.5/1.0区が12.1日の最少日数でカルスを形成し、その差異は21.0日であった。このように、最も少日数で、早くカルス形成したのは NAA 0.5 mg/l と BA 0.5~1.0 mg/l の濃度組合わせ処理であり、これら植物ホルモンの併用処理濃度が葉片組織の細胞の分裂と増殖を促進し、そして、カルスの誘起などの促進作用がさかんに行われたことに起因しているものと考えられる。このことは、Chang JS は NAA と BA 処理濃度が0.1 mg/l 以上、Grunewaldt J は BA 0.4 mg/l 処理濃度でそれぞれカルス形成を観察しており⁽¹¹⁾、Moncovsin C らは NAA と BA を用い、カルス形成をみている⁽¹⁶⁾それらの実験結果とはほぼ類似している。

ここで、形成されたカルス集塊の色についてみると、各区とも一様に、その形成初期では、白またはクリーム色をおびていたが、時期経過にともない、淡い茶色に変色し、さらにカルス形成以後においては、カルス全体がくすんだ茶褐色を持続した。処理区間に差異は殆んど認められなかった。また、形成されたカルス集塊の形質は NAA と BA 処理濃度組合わせに関係なく、硬く、全体がしまった状態であることが観察された。

外植片置床からシュート形成までの所要日数は Fig. 1-a, 1-b. および 1-c. に示した。これら図から明らかなように、NAA 濃度処理区間では、0.5 mg/l 各区が0 mg/l 各区のそれと比べ、少ない日数でシュートを形成する傾向を示した。BA 濃度処理区間では、カルス形成と同じように、高濃度処理区ほど日数が少なく、低濃度処理区ほど多くの日数を要し、シュートを形成する傾向を示した。また、NAA と BA 処理濃度組合わせ区間では、0/0.05区が39.9日で最多日数を要し、0.5/1.0区が24.2日で最少日数でシュートを形成し、その差異は15.7日であった。

カルス形成からシュート形成までの所要日数は Table 2-a, 2-b. および 2-c. に示した。これら表から明らかなように、NAA 濃度処理区間では、0 mg/l 各区が比較的に日数が少なく、1.0 mg/l 各区が多く日数を要した。BA 濃度処理区間では、高濃度処理ほど少ない日数でシュート形成が認められた。また、NAA と BA 処理濃度組合わせ区間では、1.0/0.05区が20.0日で最多

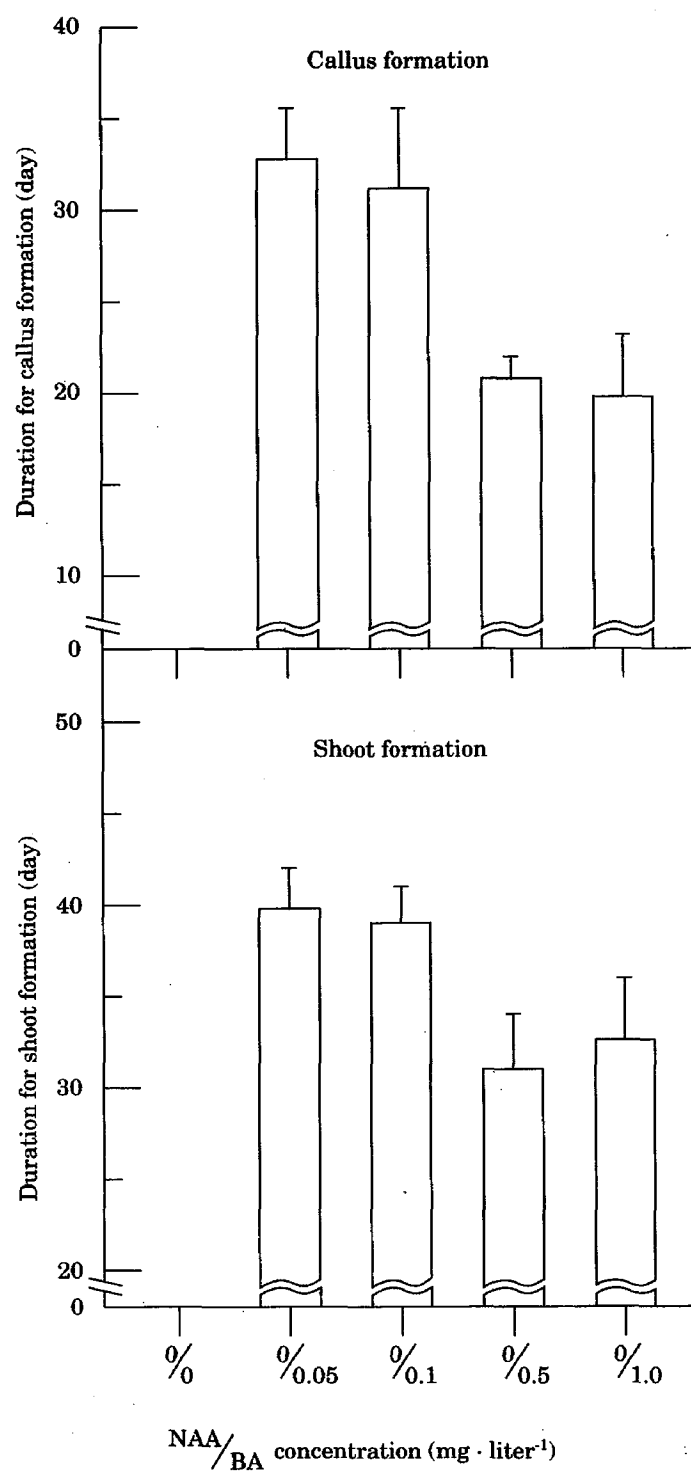


Fig. 1-a. Effects of NAA and BA on the formation of callus and shoot in leaf blade explant culturing of 'Susie' African violet. Vertical bars are means \pm SD (n=20).

セントポーリアの葉外植片のカルス形成およびシュート形成に及ぼすオーキシシンおよびサイトカイニンの影響

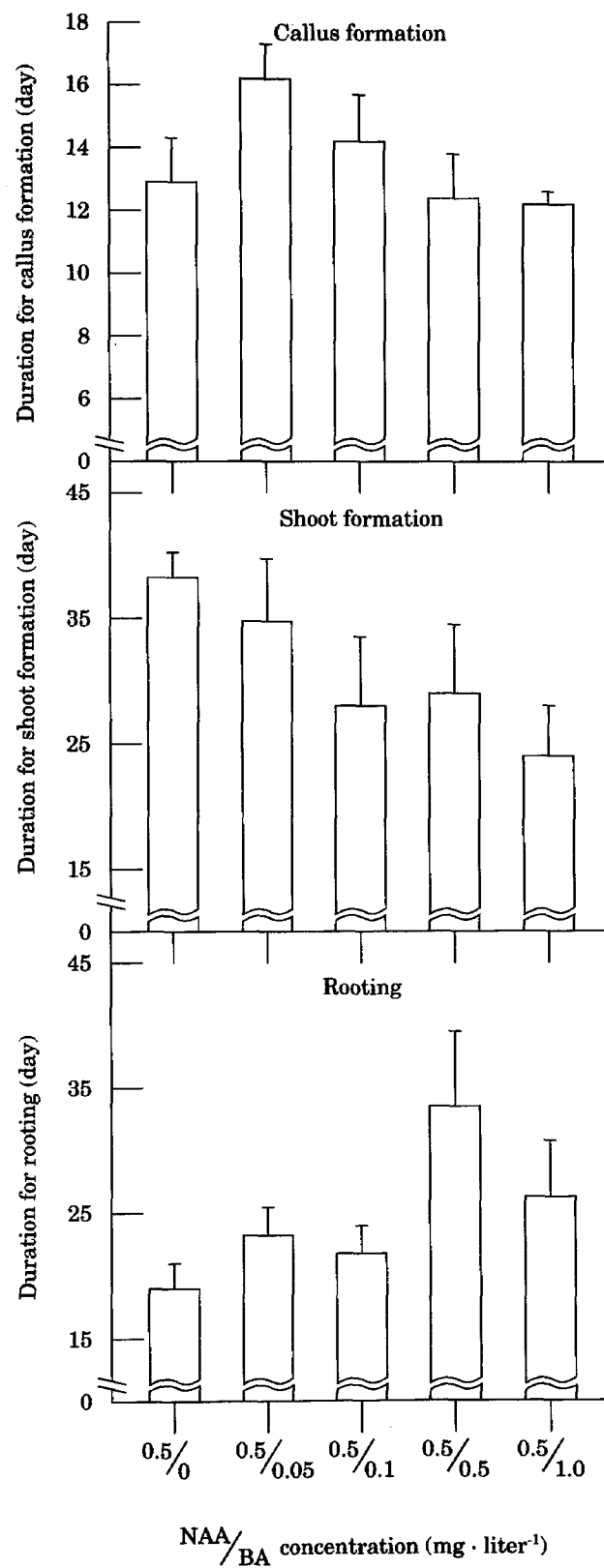


Fig. 1-b. Effects of NAA and BA on the formation of callus and shoot adventitious rooting in leaf blade explant culturing of 'Susie' African violet. Vertical bars are means \pm SD (n=20).

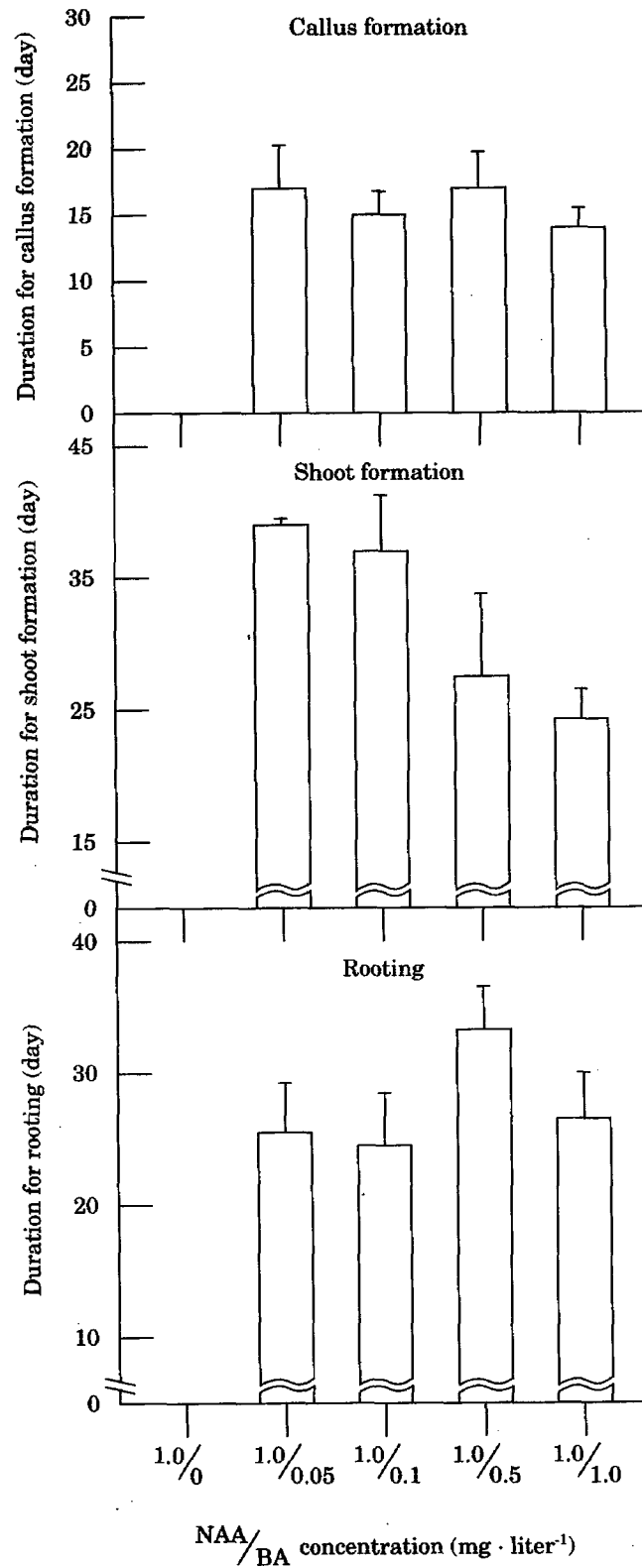


Fig. 1-c. Effects of NAA and BA on the formation of callus and shoot, adventitious rooting in leaf blade explant culturing of 'Susie' African violet. Vertical bars are means \pm SD (n=20).

Table 2-a. Effects of NAA and BA on the formation of callus and shoot in leaf blade explant culturing of 'susie' African violet.

Duration and percentage	NAA/BA concentration (mg·liter ⁻¹)				
	0/0	0/0.05	0/0.1	0/0.5	0/1.0
Days from explanted to induction callus formation	—	27.0	22.0	16.0	15.0
Days from explanted to induction shoot formation	—	35.0	37.0	26.0	24.0
Days from callus formed to shoot formation	—	8.0	15.0	10.0	9.0
Callus formation percentage (%)	—	(80.0)	(70.0)	(80.0)	(95.0)
Shoot formation percentage (%)	—	(60.0)	(50.0)	(75.0)	(85.0)

Table 2-b. Effects of NAA and BA on the formation of callus and shoot, adventitious rooting in leaf blade explant culturing of 'susie' African violet.

Duration and percentage	NAA/BA concentration (mg·liter ⁻¹)				
	0.5/0	0.5/0.05	0.5/0.1	0.5/0.5	0.5/1.0
Days from explanted to induction callus formation	12.0	16.0	13.0	10.0	12.0
Days from explanted induction shoot formation	36.0	27.0	20.0	20.0	19.0
Days from explanted to induction adventitious rooting	24.0	20.0	20.0	17.0	21.0
Days from callus formed to shoot formation	16.0	11.0	7.0	10.00	7.0
Days from callus formed to adventitious rooting	4.0	4.0	7.0	7.0	9.0
Callus formation percentage (%)	(100)	(100)	(100)	(100)	(100)
Shoot formation percentage (%)	(55.0)	(60.0)	(70.0)	(100)	(100)
Percentage of adventitious rooting (%)	(100)	(100)	(100)	(81.5)	(80.0)

Table 2-c. Effects of NAA and BA on the formation of callus and shoot, adventitious rooting in leaf blade explant culturing of 'susie' African violet.

Duration and percentage	NAA/BA concentration (mg·liter ⁻¹)				
	1.0/0	1.0/0.05	1.0/0.1	1.0/0.5	1.0/1.0
Days from explanted to induction callus formation	—	13.0	14.0	16.0	13.0
Days from explanted induction shoot formation	—	39.0	28.0	23.0	23.0
Days from explanted to induction adventitious rooting	—	26.0	20.0	25.0	23.0
Days from callus formed to shoot formation	—	20.0	14.0	7.0	10.0
Days from callus formed to adventitious rooting	—	7.0	6.0	9.0	10.0
Callus formation percentage (%)	—	(100)	(100)	(100)	(100)
Shoot formation percentage (%)	—	(10.5)	(42.1)	(95.0)	(100)
Percentage of adventitious rooting (%)	—	(100)	(100)	(100)	(95.0)

日数を要したのに対し、0.5/0.1区、0.5/1.0各区および1.0/0.5区が揃って7.0日で最少日数でシュート形成がみられ、その差異は13.0日であった。このように、最少日数で、しかも早くシュートを形成したのは、カルス形成が最も早かった NAA 0.5 mg/l と BA 1.0 mg/l の濃度組合わせ

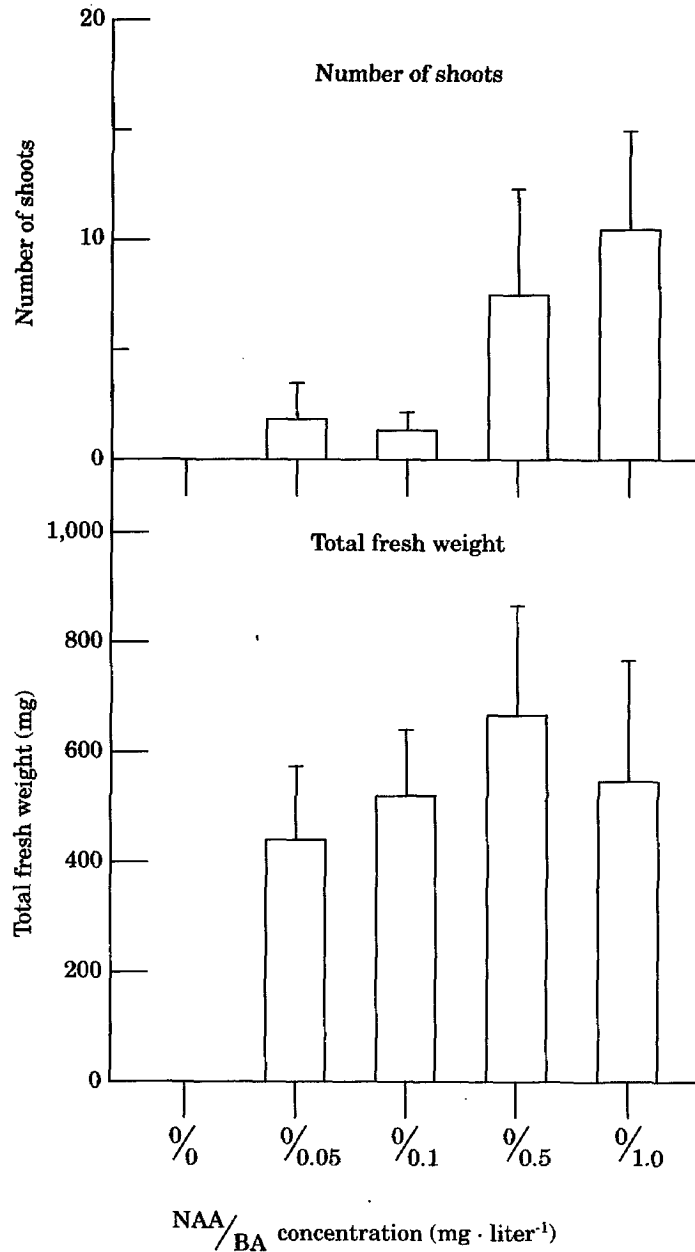


Fig. 2-a. Effects of NAA and BA on the number of shoot and total fresh weight in leaf blade explant culturing of 'Susie' African violet. Vertical bars are means \pm SD (n=20).

処理であり、これら植物生長調整物質の NAA と BA の併用処理濃度が葉片組織の細胞増殖を促進し、併せてカルス形成とシュート原基形成の誘起を促進したことが、その起因であると考えられる。このことは Grunewald J は BA 0.4 mg/l 処理濃度でシュート形成をみており、Jungnickel F は NAA と BA の処理濃度が 0.1 mg/l でシュート形成を観察しており⁽¹²⁾、また P. C.

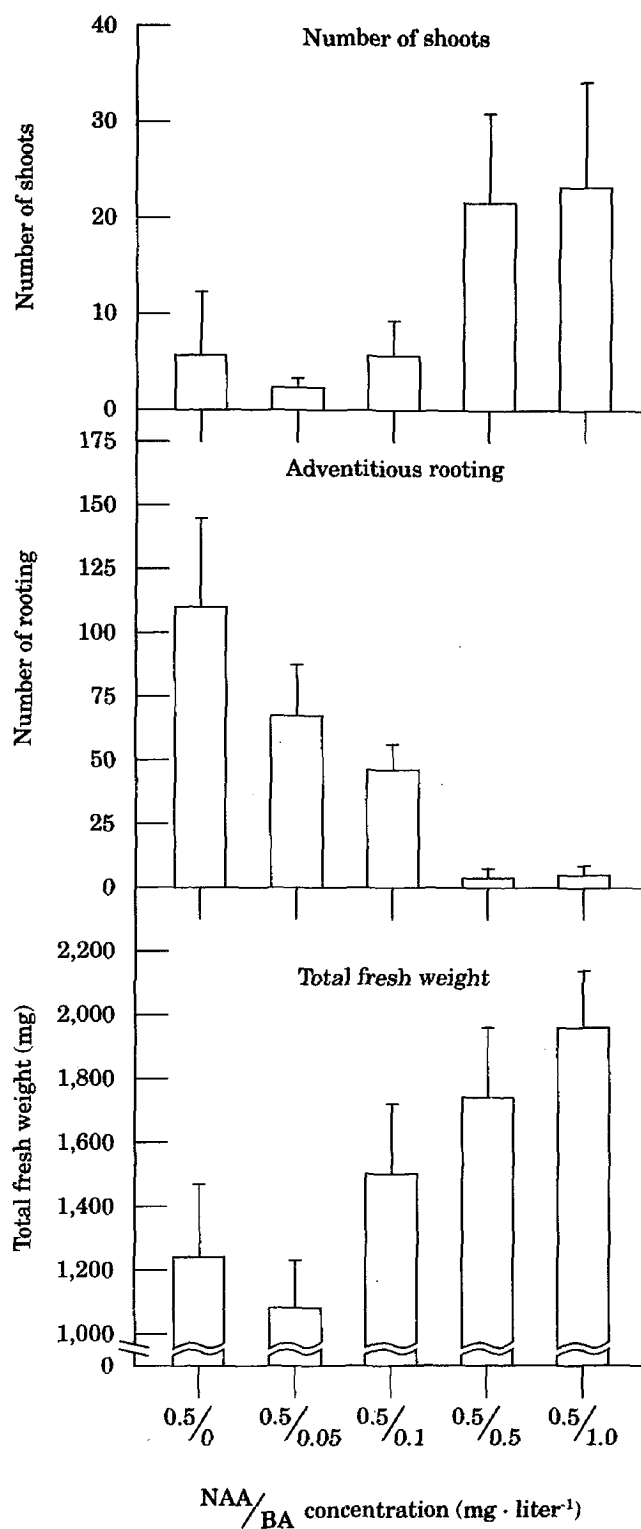


Fig. 2-b. Effects of NAA and BA on the number of shoot, adventitious rooting and total fresh weight in leaf blade explant culturing of 'Susie' African violet. Vertical bars are means \pm SD (n=20).

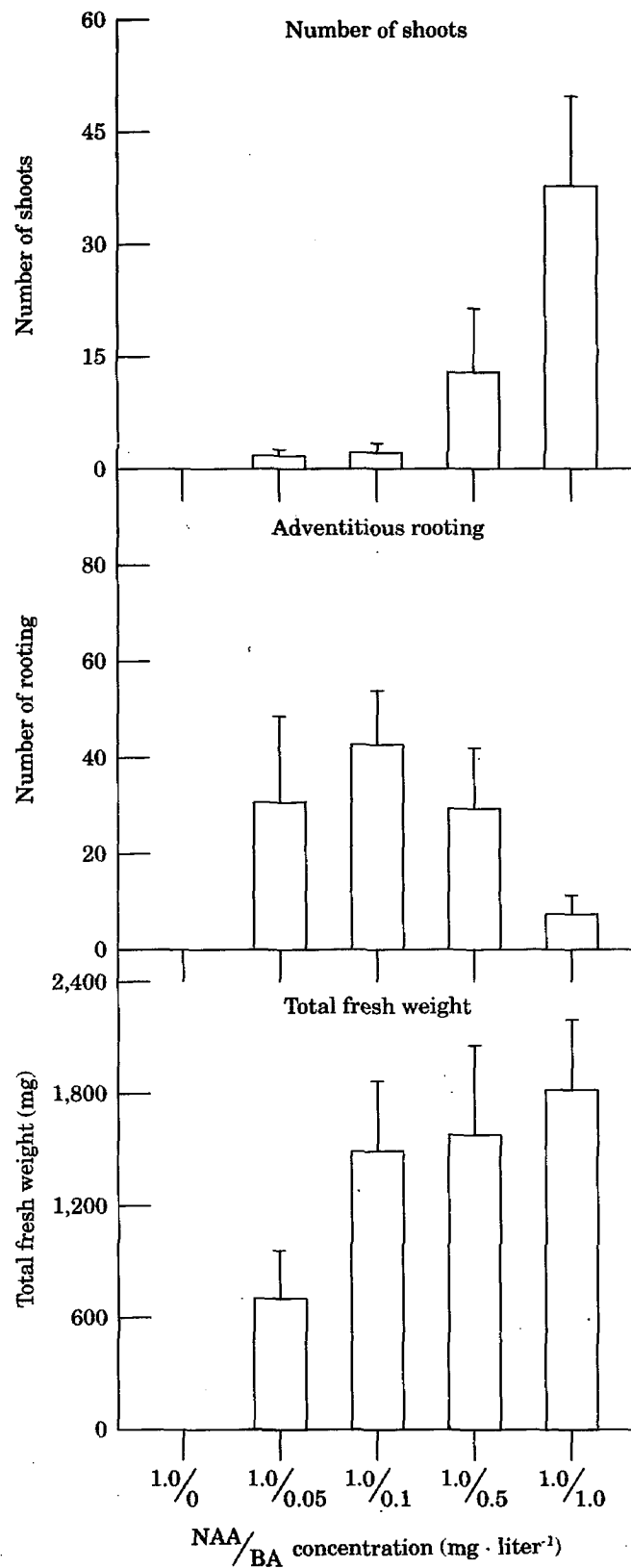


Fig. 2-c. Effects of NAA and BA on the number of shoot, adventitious rooting and total fresh weight in leaf blade explant culturing of 'Susie' African Violet. Vertical bars are means \pm SD (n=20).

Bilkey ら⁽¹⁸⁾, Xu LQ⁽²²⁾, Chang JS ら⁽¹¹⁾は NAA と BA の処理濃度が 0.01~0.1 mg/l でシュート形成をみており、それらの実験結果とはかならずしも一致しなかった。また、結果的に、BA の単独処理となった NAA 0 mg : BA 0~1.0 mg/l の組合わせ各区では、いずれにおいても 30 日以上を要し、シュート形成がおくれることが認められた。このことは、1 つには、BA は単独処理では、細胞分裂などの効果が弱いこと、2 つには、茎や葉などの成長が抑制される作用のあることが、その原因であると考えられる。

次に、外植片置床から不定根形成までと、シュート形成から不定根形成までの所要日数は Table 2-b. および 2-c. に示した。これら表から明らかなように、NAA の濃度処理の 0.5 mg/l 各区と 1.0 mg/l 各区の対比では、著しい差異は認められないが、BA 濃度処理区間では、高濃度処理ほど日数が多く、反対に低濃度処理ほど少ない日数で不定根の形成が認められた。

シュート形成数、不定根形成数およびカルスとシュートの生体重は Fig. 2-a., 2-b. および 2-c. に示した。これら図から明らかなように、先ず、シュート形成数は NAA 濃度処理区間では、0 mg/l 各区が少なく、0.5 mg/l と 1.0 mg/l の各区が比較的多かったが、かならずしも区間に一定した傾向は認められなかった。BA 濃度処理区間では、NAA 濃度処理各区とも高濃度処理ほど多く、低濃度処理ほど少なくなる結果が示された。NAA と BA 処理濃度の組合わせ区間では、1.0/1.0 区が 38.1 で最も多く、次いで 0.5/1.0 区 > 0.5/0.5 区 > 1.0/0.5 区 > 0/0.5 区の順となり、1.0/0.05 区が 1.0 で最少値を示した。すなわち、大量増殖の基本となる小植物体数をつくり出すシュートを最も多く形成したのは NAA と BA が 1.0 mg/l 処理濃度であり、これら植物ホルモンの混用処理濃度がカルス形成を促進し、それと並行してシュート形成の誘起を最も促進したことが、その起因であると考えられる。そして、このことは、前に述べたように Jungnickel F⁽¹²⁾, Chang JS⁽¹¹⁾, P. C. Bilkey ら⁽¹⁸⁾, Xu LQ⁽²²⁾ のそれら実験結果と多少のちがいが示された。不定根形成数は NAA 濃度処理区間では、1.0 mg/l 各区に比べ 0.5 mg/l 各区が多かった。BA 濃度処理区間では、NAA のいずれの濃度処理においても低濃度処理ほど多く形成したが、高濃度処理ほど少なく、抑制される結果が示された。NAA と BA 処理濃度組合わせ区間では、0.5/0 区が 110.4 で最も多く、次いで 0.5/0.05 区 > 0.5/0.1 区 > 1.0/0.1 区の順となり、0.5/0.5 区が 3.0 で最も少なく、その差異は 107.4 であった。このように、不定根の形成が、BA 処理処度が高いほど遅く、しかもその数が少ないのに対し、その処理濃度が低いほど早く、数多く形成した。そして、NAA 0.5 mg : BA 0 mg/l 組合わせ濃度処理で最も多く形成したのは、NAA 0.5~1.0 mg/l 処理濃度が不定根形成を誘起し、発根を促進する作用を示しており、また、他方、BA の高濃度処理は不定根の形成と成長を著しく抑制する作用のあることが示された。このことは、Chang JS⁽¹¹⁾, P. C. Bilkey⁽¹⁸⁾, Xu LQ らは NAA と BA 処理濃度が 0.1 mg/l 以上で不定根形成が抑制されること⁽²²⁾, Zaid S⁽²⁴⁾ ら、So IS⁽²⁰⁾ らは NAA と BA 処理濃度が 0~1.0 mg/l で不定根形成が抑制されると述べていることと、それらの実験結果とはほぼ類似しているが、Kukulczanka and

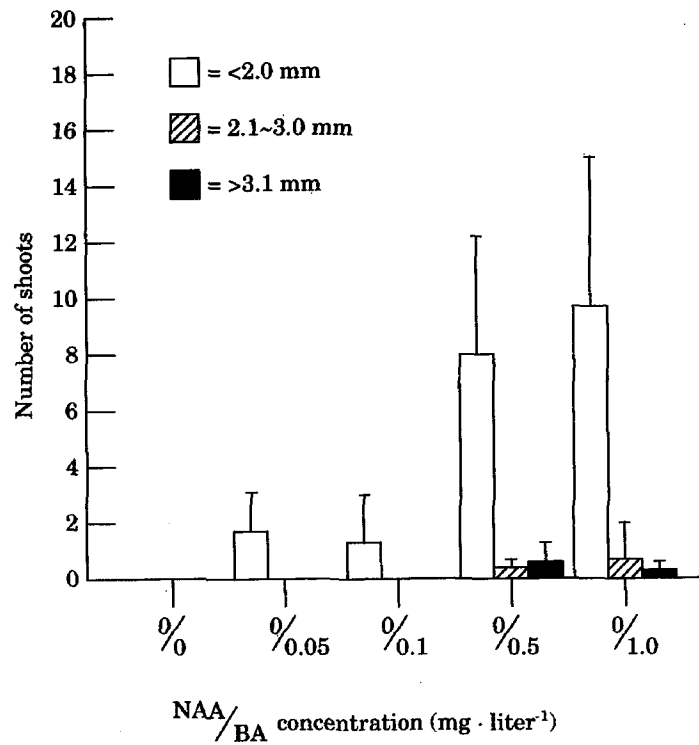


Fig. 3-a. Effects of NAA and BA on the shoot growth in leaf blade explant culturing of 'Susie' African violet. Vertical bars are means \pm SD (n=20).

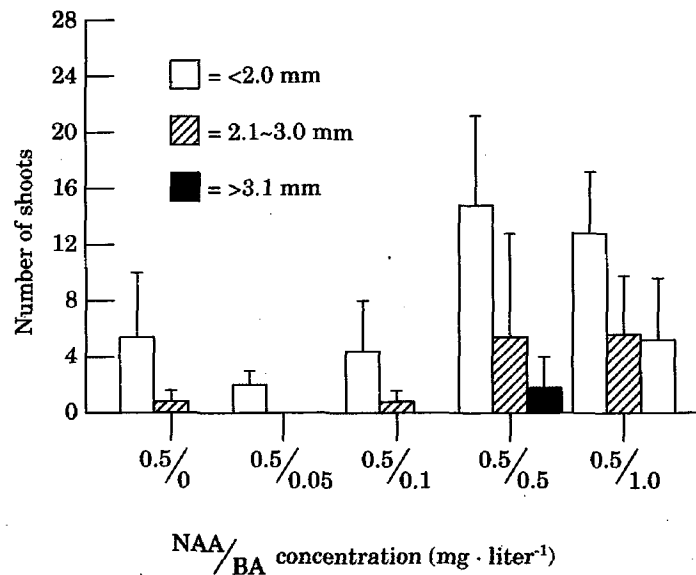


Fig. 3-b. Effects of NAA and BA on the shoot growth in leaf blade explant culturing of 'Susie' African violet. Vertical bars are means \pm SD (n=20).

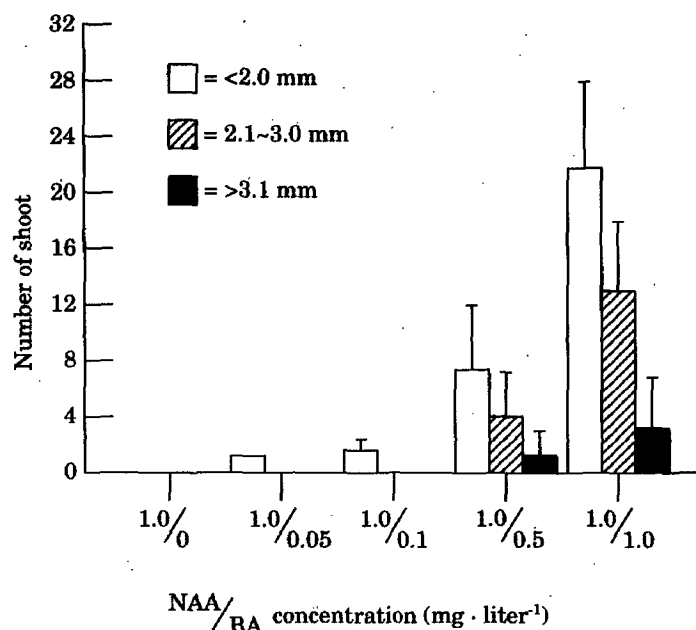


Fig. 3-c. Effects of NAA and BA on the shoot growth in leaf blade explant culture of 'Susie' African violet. Vertical bars are means \pm SD (n=20).

Suszyńska⁽¹⁴⁾のそれら実験結果とは異なっていた。

形成されたカルスとシュートの生体重はNAA濃度処理区間では、0.5 mg/l > 1.0 mg/l > 0 mg/l 各区の順に重かった。BA濃度処理区間ではNAA処理濃度に関係なく、不定根形成数と反対に低濃度処理より高濃度処理ほど重くなる傾向を示した。NAAとBAの処理濃度の組合せ区間では、0.5/1.0区が2000 mgで最も重く、次いで、1.0/1.0区 > 0.5/0.5区 > 1.0/0.5区の順となり、0/0.05区が400 mgで最も軽かった。このように、NAA 0.5 mg : BA 1.0 mg/l 組合せ濃度処理は不定根形成数が著しく少なかったにもかかわらず、その生体重が最も重い結果となったのは、細胞増殖の促進によって、カルス形成、シュート形成および不定根の成長などが最も促進したことに起因しているものと考えられる。しかし、NAA 0 mg と BA 0~1.0 mg/l 組合せ各区と1.0/0区では、カルス形成、シュートおよび不定根の形成は認められなかったが、その原因について説明する必要がある。

摘 要

セントポーリアの大量増殖法を確立する目的で、品種：スージを用い、葉片組織培養におけるカルス形成、シュート形成および不定根の形成に及ぼす培地中のオーキシンおよびサイトカイニンの影響について試験管内実験を行った。培養培地はMS培地を基本とし、培養液1 l 当たり、

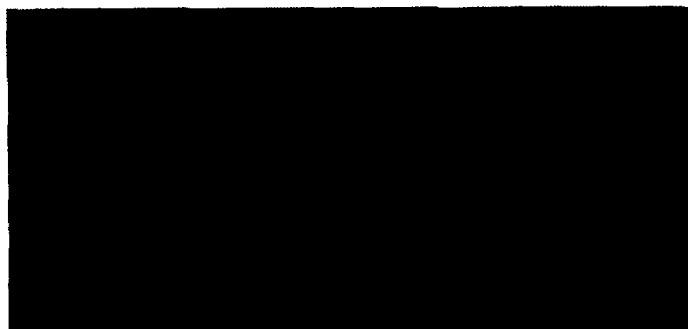


Fig. 4. Adventitious shoots formed at the base of an isolated axenic leaf on 0.5 mg/l NAA + 1.0 mg/l BA medium (1991).



Fig. 5. Adventitious roots formed at the base of an isolated axenic leaf on 0.5 mg/l NAA + 0.1 mg/l BA medium (1991).

寒天9g, シュ糖30gとし, pH値5.8に調整した。実験区は上の培養液1l当たりNAA 0, 0.5および1.0mgとBA 0, 0.05, 0.1, 0.5および1.0mgとを組合わせた計15区を設けた。外植片培養は昼光色蛍光灯の照度, 3.0 klux, 16時間日長で, $25 \pm 2^\circ\text{C}$ のインキュベーターにおいて42日間行った。

外植片置床からカルス形成, シュート形成および不定根の形成までと, カルス形成から不定根の形成までの, それぞれの所要日数はNAA 0.5 mg : BA 0.5~1.0 mg \cdot liter $^{-1}$ 組合わせ濃度処理が最も少なく, それらの形成が早まった。シュート形成数はNAA 1.0 mg : BA 1.0 mg \cdot liter $^{-1}$ 組合わせ濃度処理が最も多かった。不定根形成数はNAA 0.5 : BA 0.1 mg \cdot liter $^{-1}$ 組合わせ濃度処理で多かったが, NAAとBAの高濃度処理ほど少なく, 抑制される結果を示した。しかし, NAA 0 mg : BA 0~1.0 mg \cdot liter $^{-1}$ 組合わせ濃度処理では, 不定根の形成は認められなかった。形成されたカルスとシュートの生体重はNAA 0.5 mg : BA 1.0 mg \cdot liter $^{-1}$ 組合わせ濃度処理で最も重かった。したがって, セントポーリアの葉組織の *in vitro* 培養における形態形成に対してはNAA 0.5 mg : BA 0.5~1.0 mg \cdot liter $^{-1}$ 組合わせ処理が好結果を示し, この処理濃度が

最適であること、また NAA と BA は単独処理よりも併用の効果の強いことが明らかとなった。

謝 辞 本稿を草するに当たり、実験にご協力いただきました市川昌樹氏（現在、三重県公務員）、山崎 弘氏（現在、神奈川県公務員）に対し、深く感謝する。

引 用 文 献

- (1) 佐々木貴司・山本研二・井内一樹・石田源次郎. 1992. カンパニュラ・メジュームの苗条原基法による大量増殖に関する研究. 園学雑. 61. 別 2: 476-477.
- (2) 佐藤義機・祖一範夫・徳住彰啓・長谷川曙. 1992. ユーチャリスの組織培養による繁殖. 園学雑. 61. 別 2: 484-485.
- (3) 杉浦広幸・倉島 裕・森山 勉・本間利光. 1992. オリエンタル系ユリ ‘スイートメモリー’ の苗条原基による増殖法. 園学雑. 61. 別 2: 490-491.
- (4) 杉浦広幸・榎並 晃・本間利光. 1991. ユリの胚様体. 苗条原基による増殖法. 園学雑. 60. 別 2: 498-499.
- (5) 塚本洋太郎・前川静江・山本かほる・佐々木瑞子. 1982. セントポーリア. 室内環境と栽培. 文化出版局. p: 166-169.
- (6) 鶴島久雄. 1992. 花卉園芸ハンドブック. 養賢堂. p: 493-498.
- (7) 箱崎美義. 1993. セントポーリアの葉外植片のカルス形成およびシュート形成に及ぼす培地中のシュ糖および pH の影響. 明大農研報. 第96号 p: 15-26.
- (8) 平岩英明・市橋正一. 1992. ファレノプシス類のカルスの特性に関する研究（第2報）. カルス培養用培地の組成について. 園学雑. 61. 別 2: 496-497.
- (9) 重松康司・浜田 豊・鶴島久雄. 1991. 組織培養を用いた大量増殖法に関する研究（第1報）. ガーベラ及びセントポーリアの増殖技術について. 園芸学会平成3年度春季大会研究発表要旨 p: 406-407.
- (10) Baolin Zhang and L. P. Stoltz. 1989. Shoot proliferation. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115(2): 324-329.
- (11) Chang J S. 1985. *In vitro* rapid propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendl. Plant physiology communications (Zhiwu shenglixue Tongxun) 5: 34-36 (in chinese).
- (12) Jungnickel F. 1976. Regenerative properties of isolated petioles of *Saintpaulia ionantha* influenced by 6-benzylaminopurine or α -naphthalene acetic acid. Biochem physiol pflanz. 170: 457-459.
- (13) Kenneth C. Torres. 1989. Tissue culture techniques for Horticultural crops. An AVI book. p: 80-84.
- (14) Kukulczanka K and Suszynska G. 1972. Regenerative properties of *Saintpaulia ionantha* Wendl leaves cultured *in vitro*. Acta Soc Bot Pol. 41: 503-509.
- (15) Mohamed F. Mohamed, Paul E. Read and Dermot P. Coyne. 1992. Plant regeneration from *in vitro* culture of embryonic axis explants in common and tepary beans. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117(2): 332-336.
- (16) Moncovsin C. 1978. Contribution á la mise au point d'un milieu de culture pour la multiplication *in vitro* de Gesnériacées. Rev Hortie Suisse. 51: 295-301.
- (17) Ni Lee and Hazel Y. Wetzstein. 1990. *In vitro* propagation of muscadine grape by axillary shoot proliferation of *Euphorbia fulgens* *in vitro* affected by medium components. HortScience. 24(3): 503-504.
- (18) P. C. Bilkey, B. H. McCoun and Hildebrand. 1978. Micropropagation of African violets from petiole cross-section. HortScience. 13: 37-38.
- (19) Ron C. Cooke. 1987. Tissue culture propagation of African violets. HortScience. 12(6): 549.
- (20) So I S. 1983. Studies on *in vitro* culture of *Saintpaulia ionantha* Wendl. I. Effect of different combinations of growth regulators on organogenesis. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 24: 86-91.
- (21) Start N. D. and Cummings. 1976. *In vitro* propagation of *Saintpaulia ionantha* Wendl. HortScience. 11(3): 204-206.
- (22) Xu L Q. 1984. The promotive effects of ginseng on rapid clonal *in vitro* propagation of African violet

- (*Saintpaulia ionantha* Wend). Acta Bot. Sin. 26: 489-498.
- (23) Y. P. S. Bajaj. 1992. Biotechnology in agriculture and forestry. Vol. 20. High-tech and micropropagation IV. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p: 357-395.
- (24) Zaid S. 1989. Morphogenetische, Untersuchungen an axenisch kultivierten gesneriaceen. Thesis. Friedrich-Schiller-Univ Jena. p: 91-108.